Aus dem Gerichtsärztlichen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Professor Dr. Karl Reuter.

# Die Wirkung physikalischer und chemischer Mittel auf die gruppenspezifischen Eigenschaften des menschlichen Samens.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie
bei der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Breslau
vorgelegt von

HANS JACOB

HOCHSCHUL-VERLAG BRESLAU
Druck: Hochschulverlag Karl Vater, Breslau, Siebenhufener Straße 11/15

1933

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Breslau

I. Referent: Professor Dr. Straßmann

II. Referent: Professor Dr. Reuter

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Seit der für die Wissenschaft — im besonderen auf dem Gebiete der klinischen Therapie und gerichtlichen Medizin — so entscheidenden Bedeutung der Entdeckung der spezifischen Eigenschaften des menschlichen Blutes in den Jahren 1901—1903 durch Karl Landsteiner (7) befaßten sich zahlreiche naturwissenschaftliche und medizinische Forscher mit dem weiteren systematischen Ausbau und der Vertiefung dieser hervorragenden Entdeckung.

Schon früher waren es einerseits Uhlenhuth, andererseits — unabhängig von diesem — Wassermann, die mit Hilfe der Präzipitationsmethode die Möglichkeit zeigten, menschliches Blut vom tierischen zu unterscheiden. Ferner beobachteten andere Forscher, wie z. B. S. G. Shattock, im menschlichen Blute Eigenschaften, von denen sie mitteilten, daß in diesem gewisse Substanzen vorhanden seien, welche die Fähigkeit hätten, das Blut anderer Menschen zu beeinflussen bezw. zu zerstören; da sie jedoch ihre Versuche ausschließlich am Blut kranker Menschen vornahmen, glaubten sie diese Eigenschaften auf pathologische Vorgänge zurückführen zu müssen. Doch langsam setzte sich die von Landsteiner vertretene Meinung über die Gruppendifferenzierung im menschlichen Blute mehr und mehr durch, und so begann damit für die Blutforschung ein ungeahnter Aufschwung, der sich wohl dadurch am besten kennzeichnet, daß in der verhältnismäßig kurzen Zeit seit der Entdeckung bis heute nicht weniger als 3500 Schriften darüber veröffentlicht worden sind.

Immer neue Möglichkeiten der praktischen Verwertung wurden gefunden und vervollkommnet; so die Bluttransfusion, die früher ohne die Kenntnis der Gruppeneigenschaften häufig zu mehr oder weniger schweren Schädigungen der betreffenden Patienten führte, ferner die immer mehr sich ausbreitende Anwendung in der gerichtlichen Medizin. Man beschränkte sich aber auch nicht nur darauf, die Blutgruppe am frischen Blute festzustellen, sondern ging besonders in der gerichtlichen Medizin immer weiter und versuchte, diese

Eigenschaft auch an eingetrocknetem Blute und endlich, als durch Yamakami (17) diesbezügliche Versuche an anderen Körperzellen und Körperflüssigkeiten angestellt wurden, auch an diesen zu finden.

Wieder waren es Landsteiner und Richter 1903, welche Angaben über die Möglichkeit machten, auf verschiedene Gegenstände verspritztes und mehr oder weniger lange Zeit eingetrockenes Blut gruppenspezifisch zu unterscheiden. Sie gaben eine Methode an, bei deren Anwendung die im vertrockneten Blute vorhandenen Agglutinine die zugesetzten entsprechenden frischen Testblutkörperchen zur Agglutination brachten.

Diese Methode blieb lange Zeit vorherrschend; nur wurden durch L. Lattes (8) verschiedene Verbesserungen bezüglich der Technik, aber unter Festhalten an der Grundidee, gemacht. Andere Verbesserungen, wie die von A. Müller (9), der Angaben über Agglutininanreicherungsverfahren machte, erwiesen sich als nicht vollwertig. Erst Holzer (4), angeregt durch Schiff (11), blieb es vorbehalten, die Methode der Wahl für heute zu bestimmen. Diese Forscher gingen von der beobachteten Tatsache aus, daß die Substanz in den roten Blutkörperchen, das Agglutinogen, sich viel besser im angetrockneten Zustande erhalte und auch gegen äußere Einflüsse viel widerstandsfähiger sei als die Agglutinine im Serum.

Auf Grund dieser Feststellung versuchte nun Holzer nicht mehr wie bisher, die Gruppenzugehörigkeit an Blutflecken durch den Agglutininnachweis zu prüfen, sondern mit Hilfe des sich im angetrockneten Blute befindlichen und widerstandsfähigeren Agglutinogens. Und zwar ging er dabei von folgenden Erwägungen aus: „Wenn man angetrocknetes Blut einem Serum hinzusetzt, das Antikörper gegen die betreffenden Blutkörperchen enthält, so muß hierbei das Agglutinogen des Fleckes je nach seiner Wirksamkeit entweder den Antikörper schwächen oder vollständig binden; auf nachheriges Zusetzen frischer Blutkörperchen, von der Art wie sie im angetrockneten Blut vorhanden sind, darf jetzt keine Agglutination durch das Serum mehr eintreten."

Diese Methode, Absorptionsverfahren genannt, hat sich zur Gruppenbestimmung an Blutflecken als die beste der bisher angegebenen herausgestellt; zahlreiche Kontrollversuche an verschiedenen Stellen, insbesondere im Breslauer Ge-

richtsärztlichen Institut, konnten dieses bestätigen. So konnte G. Straßmann (14) an Blutflecken, die schon jahrelang getrocknet waren, die Blutgruppe noch einwandfrei nach dieser Methode bestimmen.

Ein weiteres Gebiet erhielt die inzwischen fast zu einer besonderen Wissenschaft angewachsene Blutgruppenforschung durch die Entdeckung der Tatsache, daß sich nicht nur im Blute spezifische Körper und Antikörper finden, sondern daß diese auch in allen anderen Geweben und Körperflüssigkeiten nachzuweisen seien. Den ersten Anstoß hierzu gaben wohl 1911 v. Dungern und Hirszfeld (2), als sie an Organen von Hunden Zelleigenschaften, die denen der Blutgruppen ziemlich ähnlich waren, feststellten. Die Aufnahme dieses so ungeheuerlich erscheinenden Gedankens durch die Wissenschaft war anfangs sehr kühl, und daher ist es verständlich, daß erst 14 Jahre später die erste Mitteilung erscheint, die sich mit der Forschung in dieser Angelegenheit befaßt.

Und zwar war es Yamakami (17), welcher die Behauptung aufstellte, daß in den menschlichen Zellen sich dem Blute ähnliche Gruppeneigenschaften befänden; veranlaßt wurde er hierzu durch seine Untersuchungen an menschlichen Spermatozoen. Er fand, daß diese ebenso wie die Blutkörperchen ein Agglutinogen enthalten, und daß die gruppenspezifischen Eigenschaften im Samen mit denen in den Blutkörperchen desselben Individuums identisch waren. Nach dieser Veröffentlichung erscheinen nun in rascher Folge immer neue Mitteilungen über den Gruppennachweis in Körperflüssigkeiten und Zellen.

Landsteiner und Levine (7), sodann Witebsky und Okabe (16) gelang es durch Komplementbindungsverfahren mit Auszügen aus Organen und auf dem Wege über Immunisierung von Kaninchen dieselben Resultate wie Yamakami zu erzielen und dessen Angaben in vollem Umfange zu bestätigen. Trotzdem mußten sich bei dieser schwierigen Art der Untersuchung und der nicht minder diffizilen Technik häufig Fehler und unsichere Ergebnisse einschleichen. Ferner waren auch die Ansichten über die Substanz, an welche diese Eigenschaften gebunden sein sollten, sehr widersprechend. So wurde die Behauptung aufgestellt, daß die gruppenspezifische Substanz ausschließlich an den Lipoiden der Zellen verankert sei. Diesem widerspricht hingegen die von F. Schiff (11) erwähnte Tatsache, daß in den so besonders lipoid-

reichen Zellen des Zentralnervensystems wohl bis heute die jene anderen Zellen des Organismus auszeichnenden spezifischen Eigenschaften nicht gefunden worden sind. Diese Unstimmigkeiten in den Angaben hielten bis zur Arbeit von Kritschewsky und Schwarzmann (6) an. Diese führten die teils negativen teils falschen Resultate auf eine fehlerhafte Technik sowie unrichtige Theorien zurück; sie behaupteten, endlich den richtigen Weg gefunden zu haben, die Frage, ob mit Recht, mag offen bleiben. Trotzdem ist aber die Tatsache nicht von der Hand zu weisen, daß viele Forscher, welche vor ihnen hierüber Versuche angestellt hattten, eins unterlassen hatten, nämlich die Ausschaltung der Blutkörperchen aus den Organen, die sie untersuchten, sodaß ihre Ergebnisse deshalb nicht einwandfrei sein konnten. Kritschewsky und Schwarzmann (6) gingen so vor, daß sie vor ihren Versuchen die Organzellen von den anhaftenden Blutbeimengungen befreiten und so die Sicherheit ihrer Ergebnisse bedeutend verbessern konnten. Weiterhin zu erwähnen wären noch die Versuche von Krainskaja-Ignatowa (5) am Sperma, durch welche, — wie schon Yamakami fand — festgestellt wurde, daß dieses erstens gruppenspezifische Eigenschaften besitze, und daß zweitens diese Eigenschaften denen des Blutes desselben Individuums entsprechen.

Andere Autoren stellten Versuche mit anderen Zellen des menschlichen Organismus an, wie z. B. Olaf Thomsen, welcher sowohl Leukocyten als auch Tumorzellen untersuchte; auch hierbei konnte er in diesen Zellen die spezifischen Gruppeneigenschaften feststellen. Ein anderer Forscher, Kan-Iti-Josida, gibt sogar an, daß er an Gebrauchsgegenständen, die mit dem Mund des Individuums in Berührung gekommen sind, wie z. B. Zigarettenspitzen, Mundstücke von Zigarettenstummeln sowie Zahnstocher, agglutininbindende Receptoren entdeckt habe; ja, selbst dann noch, wenn sie schon einige Tage gelegen hatten. Inwieweit diese Angaben zutreffend sind, bedarf der Nachprüfung.

Blättert man die in den letzten Jahren erschienene Literatur durch, so wird man feststellen, daß gewisse Unterschiede bezüglich der Stärke der Receptoren der verschiedenen Zellen des menschlichen Körpers gefunden worden sind. So sollen beispielsweise im Magen- und Darmsaft, im Sperma und Speichel sehr starke agglutininbindende Substanzen enthalten sein (F. Schiff (11)), wohingegen es

andere gibt, wie z. B. das Nervengewebe, in denen diese sehr schwach entwickelt sind. Es ergibt sich die Frage, worauf diese Eigentümlichkeit zurückzuführen ist. Zunächst könnte es einmal so sein, daß die Substanz, an die die Agglutinogene gebunden sind, in den verschiedenen Zellen des Körpers verschieden stark verteilt ist. Andererseits könnte die Technik der Untersuchungen nicht einwandfrei sein, was wohl hauptsächlich darauf zurückzuführen ist, daß jeder Autor nach einer anderen Methode arbeitete. Daß in den Körperzellen überhaupt Agglutinogene vorhanden sind, erscheint nunmehr festzustehen, und daß sie in diesen Zellen an eine Substanz gebunden sind, ist sehr wahrscheinlich. Nachdem man aber auch seit 1924 in den Sekreten und Exkreten des Körpers agglutinable Eigenschaften entdeckt hat, ergibt sich die weitere Frage, woran diese gebunden sein könnten, denn diese Flüssigkeiten sind doch zellfrei. Diese Frage konnte jedoch bis heute nicht sicher beantwortet werden. Was die Intensität in der Reaktionswirkung der Receptoren anbelangt, so konnte festgestellt werden, daß sie von der jeweiligen Gruppeneigenschaft des Individuums abhängig ist. Zunächst Thomsen und später Putkonen (10) konnten durch ihre experimentellen Untersuchungen beweisen, daß die A-Eigenschaft der Substanz viel stärker wirksam ist als B, jedoch in ihren Unterabteilungen, also $A_2$ viel schwächer ist. Außerdem ist die Receptorstärke der verschiedenen Körperzellen und Flüssigkeiten ungleich gegeneinander. So konnten sie, besonders Putkonen (10), beobachten, daß Speichel und Sperma die größte, Cerebrospinalflüssigkeit hingegen die geringste Receptorstärke besitze.

Die Bedeutung der Untersuchungen über die Gruppendifferenzierung an anderen Körperzellen und Flüssigkeiten als dem Blute läßt sich wohl besonders auf dem Gebiet der Kriminologie ermessen. Bei einem Verbrechen, bei dem nicht eine Blutung eingetreten sein muß, z. B. Notzucht, sind vielleicht nur Spuren von Sperma zu finden; hier handelt es sich also um die Feststellung, ob ein Verdächtiger in Frage kommen kann oder nicht. Eine Untersuchung über die Gruppenzugehörigkeit des betreffenden Sperma und ein Vergleich mit der Blutgruppe der verdächtigen Person wird wohl hier unter Vorbehalt einer richtigen und sauberen Technik oft mit ziemlicher Sicherheit die Frage entscheiden lassen, ob auf Grund dieses Befundes jemand als Täter auszuschließen ist oder nicht.

Die Untersuchungen über die Gruppenspezifität des Sperma wurden aufgenommen, als die Tatsache der Gruppendifferenzierung der anderen Körperzellen und Flüssigkeiten feststand. Denn es lag gerade für die gerichtliche Medizin sehr nahe, diese wichtige Erkenntnis der Gruppenspezifität auch am Sperma zu untersuchen, um bei Notzuchtverbrechen die Gruppenzugehörigkeit im Samen feststellen zu können. So läßt es sich erklären, daß gerade die so praktisch wichtige Erforschung auf diesem Gebiete große Fortschritte machen konnte. Früher konnte man wohl das Sperma als solches in Flecken diagnostizieren, ich nenne die Methode von Baëcchi (siehe gerichtliche Medizin 1912 Band 43), ferner die Kristallreaktionen von Florence und Barberio, jedoch die Frage nach der individuellen Zugehörigkeit des Sperma blieb unbeantwortet. Erst Yamakami (17) und dann Landsteiner und Levine (7) fanden den Weg zur Lösung dieses Problems. Yamakami ging so vor, daß er die Gruppenspezifität des Sperma mitt Hilfe der spezifischen Absorption feststellte, während Landsteiner und Levine zur Prüfung der Gruppeneigenschaften des Sperma Versuche mit Absorption gruppenspezifischer Kaninchenimmunsera anstellten. Aber auch hierbei blieb man nicht stehen, sondern ging, analog der Blutgruppenforschung, weiter und versuchte die Gruppenzugehörigkeit an getrockneten, mehr oder weniger alten Spermaflecken zu bestimmen. Es wurden zahlreiche Fälle untersucht und wohl bei den meisten richtige Resultate erzielt. Wo dies nicht der Fall war, konnten Fehlerquellen, welche hauptsächlich durch eine unrichtige Technik verursacht waren, nachgewiesen werden.

So berichtet Krainskaja-Ignatowa (5) von über 100 Fällen, an denen Untersuchungen gemacht wurden, und bei denen die an den Spermaflecken erzielten gruppenspezifischen Ergebnisse immer mit den angestellten Kontrollversuchen übereinstimmten. Es ist dies wohl der einzige Fall, wo eine 100 %ige richtige Diagnose gestellt werden konnte. Andere Autoren geben die Prozentzahl der gelungenen Versuche mit 80—83 (Levine) an, andere noch niedriger. Aber auch eine andere sehr wichtige Entdeckung konnte Krainskaja-Ignatowa (5) machen. Von den zur Untersuchung gekommenen Fällen waren drei durch Azoospermie ausgezeichnet. Hier konnte nun ebenfalls beobachtet werden, daß in diesen Samenflüssigkeiten gleich-

falls agglutininbindende Substanzen vorhanden waren; hierdurch wird die Behauptung Yamakami's (17) bekräftigt, der in der Spermaflüssigkeit — Spermaplasma — schon früher diese Eigenschaft entdeckt hatte. Aber auch andere Methoden, wie Komplementbindungsverfahren, Versuche an mit Alkohol extrahierten Organen und speziell Sperma wurden von Krainskaja-Ignatowa (5) angestellt; jedoch konnten hiermit keineswegs bessere Resultate erzielt werden, sodaß vorgeschlagen wird, die Versuche nur nach dem von Schiff-Holzer (11,4) angegebenen Verfahren auszuführen. Außerdem soll auf eine eventuelle Ausschließung einer Person mehr Gewicht zu legen sein als auf eine direkte Verdächtigung. Die letzte Arbeit darüber berichtet Christiansen (1). Es ist dies schon der von Landsteiner und Richter (7) 1903 gegebene Rat für Blutflecke und bis heute kann man auf Grund der Blutgruppenbestimmung nicht mit Sicherheit die Schuld eines Verdächtigen behaupten. Vielleicht wird die Zukunft eine weitere Vertiefung in der Erforschung der gruppenspezifischen Substanzen bringen, sodaß es dann möglich sein wird, durch Untergruppen noch eine tiefer gehende charakteristische Unterscheidung der einzelnen Menschen treffen zu können. Dieses aber würde nicht nur für die Kriminologie, sondern auch für die allgemeine Wissenschaft einen der größten Erfolge bedeuten.

Nachdem die Versuche über den Nachweis von Sperma an getrockneten Flecken gelungen waren und in fast allen Fällen positive Resultate ergaben, lag es nahe, diese Ergebnisse in den Dienst der gerichtlichen Medizin zu stellen. Die Wahrscheinlichkeit eines Täters bei Sittlichkeitsdelikten war hierdurch ein gutes Stück der sicheren Erkennung näher gebracht worden. Jedoch kamen auch Fälle vor, wo Verbrecher nach Ausübung ihrer Tat, deren Spuren zu verdecken suchten, indem sie ihre Kleidung einer reinigenden Prozedur unterzogen. Zu diesem Zwecke benutzten sie verschiedene Reagentien chemischer und physikalischer Art. Inwieweit nun dadurch die gruppenspezifischen Substanzen des Sperma in ihrer Wirkungsweise zerstört oder abgeschwächt werden, sollte die Aufgabe meiner Untersuchungen sein, die auf Anregung von Herrn Professor Dr. Straßmann erfolgten.

Die Versuche wurden nach der schon eingangs erwähnten Methode von Holzer, nämlich der Absorption,

gemacht. Das Prinzip und die Technik derselben sei im Folgenden kurz dargestellt.

Holzer ging von dem Gedanken aus, die Bestimmung der gruppenspezifischen Eigenschaften nicht wie bisher durch die Bestimmung der Agglutinine sondern durch die des Agglutinogens festzustellen; und zwar deshalb, weil das Agglutinogen gegen Austrocknung und andere äußere Einflüsse viel widerstandsfähiger ist als die Agglutinine.

Wenn man einem Fleck, der Sperma enthält, ein Serum zusetzt, welches einen Antikörper gegen das im Sperma vorhandene Agglutinogen besitzt, so wird eine Bindung des betreffenden Antikörpers durch das Agglutinogen eintreten; mit anderen Worten: Das Serum wird seines Antikörpers beraubt werden, sodaß ein nun folgender Zusatz von den der Gruppe des Sperma entsprechenden roten Blutkörperchen zu dieser Fleck-Serummischung keine Agglutination hervorrufen wird. Hieraus läßt sich dann entnehmen, welcher Gruppe der betreffende Samenfleck angehörte.

Als Material für meine Versuche stand mir Samenblaseninhalt von Leichen und auch Samenflüssigkeit von Lebenden zu Verfügung. Die mit Samenflüssigkeit bezw. Samenblaseninhalt durchtränkten Leinwandlappen werden nach vollständiger Trocknung in ungefähr 15 mg schwere Stückchen zerschnitten und dem Einfluß der zu untersuchenden Reagentien unterworfen. Gleichzeitig werden zur Kontrolle von einem reinen Leinwandlappen genau so schwere Stückchen herausgeschnitten und ebenso behandelt. Sodann ließ ich die Flecke trocknen und behandelte sie anschließend 24 Stunden lang mit einem Serum 0 oder Serum B, soweit bekannt war, daß es sich um Samenflecke der Gruppe A handelte.

Die Ansetzung dieser Proben erfolgt in Glasröhrchen von 8,5 cm Länge und ca. 1,0 cm lichter Weite. Die Menge des zugesetzten Serums beträgt 6 Tropfen pro Leinwandstückchen. Nach Ablauf von 24 Stunden wird nun je ein Tropfen aus dem Röhrchen für die weiteren Untersuchungen entnommen. Hierfür werden folgende Apparate benutzt:

1. Eine von Professor Reuter angegebene mit Gummiballon versehene Tropfpipette, die sich dadurch auszeichnet, daß sie auswechselbare Kapillarröhrchen

besitzt, wodurch neben Leichtigkeit der Handhabung ein unbedingt sauberes Arbeiten gewährleistet wird.

2. Eine Porzellanplatte, welche 12 in 2 Reihen angeordnete, halbkugelige Aushöhlungen von gleicher Größe enthält und leicht zu reinigen ist.

In alle Aushöhlungen der Porzellanplatte, bezw. soviel Aushöhlungen, wie stark man die Verdünnung machen will, wird vermittelst der Tropfpipette je ein Tropfen physiologische Kochsalzlösung gebracht und dann in die erste Aushöhlung ein Tropfen der Serum-Leinwandfleckmischung hinzugefügt. Es entsteht somit nun eine Verdünnung des Serums von 1 : 2. Jeder Versuch beginnt immer mit $^1/_2$ Verdünnung, weil zum Leinwandfleck unverdünntes Serum hinzugesetzt wurde. Es wurde zum Teil Serum 0, zum Teil Serum A und B benutzt. Der Titer war jedesmal $^1{}_{16}$. Nach guter Durchmischung dieser Verdünnung wird nun aus dieser ersten Aushöhlung wieder ein Tropfen entnommen, in die zweite Aushöhlung gebracht und wieder durchgemischt. Hier entsteht also nun $^1{}_4$ Verdünnung des Serums. In genau derselben Art wurde in der dritten Aushöhlung eine $^1{}_8$ Verdünnung, in der vierten eine $^1/_{16}$ Verdünnung usw. bis zu dem dem Serum entsprechenden Titer hergestellt. In meinen Versuchen ging ich für gewöhnlich bis zu $^1/_{16}$ Verdünnung, da das Serum keine höhere Wertigkeit zeigte. Sodann erfolgte der Zusatz von je einem Tropfen roter Blutkörperchenaufschwemmung (in der 1. Reihe A —, in der 2. Reihe B — Blutkörperchen) zu den einzelnen Serumverdünnungen. Hiermit war dann der eigentliche Versuch abgeschlossen und es wurde auf die eintretende Agglutination bis zu $^1/_2$ Stunde gewartet.

Das zu erwartende Ergebnis konnte nun folgendes sein:

1. Die agglutinable Substanz war durch die Behandlung des getrockneten Spermaflecks mit den verschiedenen Reagentien zerstört worden.
2. Sie war durch die Behandlung abgeschwächt und dadurch weniger wirksam geworden.
3. Sie war trotz der Einwirkung der verschiedenen Reagentien unverändert wirksam geblieben.

Diese verschiedenen Wirkungen mögen einmal an einem Beispiel erläutert werden.

Habe ich, angenommen, Samenfleck mit der Gruppeneigenschaft A und Serum der Blutgruppe B benutzt, so müßte im 1. Falle (Zerstörung der A-Substanz) bei Zusatz von Blutkörperchen A zu der Serum-Leinwandfleckmischung eine Agglutination in gleicher Stärke wie vorher eintreten, denn das Serumagglutinin Anti—A konnte nicht mehr durch das zerstörte Samenagglutinogen gebunden werden und wäre somit frei, um eben diese Agglutination zu veranlassen. Im 2. Falle müßte, da das geschwächte Agglutinogen nur einen Teil des Serumagglutinins binden würde, somit eine gewisse Abschwächung der Agglutination eintreten, während endlich im letzten Falle eine Agglutination überhaupt ausbleiben müßte, da das erhalten gebliebene Agglutinogen des Sperma—A das Anti—A des Serums B gebunden hätte und daher keine Wirkung mehr auf die zugesetzten roten Blutkörperchen A ausüben könnte.

Demzufolge müßten sich also aus diesen Versuchen folgende Fragen beantworten lassen:

1. Wird in einem getrockneten Spermafleck durch Einwirkung von verschiedenen Reagentien die agglutinable Substanz überhaupt zerstört?
2. In welchem Grade und nach welcher Einwirkungsdauer wird das Agglutinogen durch eben diese einzelnen Mittel abgeschwächt oder vernichtet?
3. Besteht ein Unterschied in der Wirkungsweise und Widerstandskraft zwischen den Agglutinogenen in Samenflecken der einzelnen spezifischen Gruppen?

Zur Klärung und Beantwortung dieser Fragen stellte ich die nachfolgend angegebenen Versuche an und habe die einzelnen Ergebnisse der besseren Uebersicht wegen in Tabellenform angeordnet. Von Reagentien chemischer und physikalischer Art, welche ich hierzu verwandte, gebrauchte ich:

In erster Linie kaltes sowie warmes und heißes Wasser, denn es ist verständlich, daß ein Verbrecher nach der Tat meist dieses Mittel zu einer Reinigung seiner Kleidung bezw. der seines Opfers verwenden wird. Ferner benutzte ich Säuren und Laugen, sodann Benzin, Wasserstoffsuperoxyd, Spiritus, Alkohol verschiedener Stärke, starke, trockene Hitze und letzten Endes Verbrennung des Materials durch die offene Flamme.

Die Zeitdauer der Einwirkung war eine sehr verschiedene.

Versuch 1.

Zur Feststellung der Wirkungsbreite des von mir benutzten Serums B stellte ich Verdünnungen von $^1/_2$ bis zu $^1/_{64}$ an und prüfte die Reaktion auf Zusatz von entsprechenden roten Blutkörperchen. Als Kontrolle wurde ein unbehandelter Samenfleck und ein reiner Leinwandfleck benutzt. Tabelle 1.

Ergebnis:

Die Wertigkeit des Titers des Serums B ergibt sich mit $^1/_{16}$. Reine Leinwand hat auf die Veränderlichkeit des Titers keinen Einfluß. Der Samenfleck A, unbehandelt mit Reagentien, zeigt seine spezifische Wirkung durch die Bindung des Serumagglutinins (Einwirkung bis zu 24 Stunden); der Zusatz von roten Blutkörperchen A gibt also keine Agglutination.

Versuch 2.

Nach der oben beschriebenen Technik werden 15 mg schwere Samenflecke der Gruppe A dem Einfluß von kaltem Wasser zu folgenden Zeiten unterworfen:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. | Kaltes | Wasser | 10 Min. |
| 2. | „ | „ | 15 Min. |
| 3. | „ | „ | 30 Min. |
| 4. | „ | „ | 1 Std. |
| 5. | „ | „ | 20 Std. |
| 6. | „ | „ | 48 Std. |

Als Kontrolle wird ein Samenfleck A ohne Einwirkung des Reagens und ein reiner Leinwandfleck benutzt. Nach dem Trocknen wird für 24 Stunden dann Serum B zugesetzt. Tabelle 2.

Ergebnis:

Das kalte Wasser hat trotz Einwirkung bis zu 48 Stunden keine Veränderung der A-Substanz im Samenfleck hervorgerufen; das Serumagglutinin ist gebunden worden, sodaß keine Agglutination der roten Blutkörperchen eintreten konnte.

Versuch 3.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von warmem Wasser zu folgenden Zeiten unterworfen:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. | Warmes | Wasser | 10 Min. |
| 2. | „ | „ | 15 Min. |
| 3. | „ | „ | 30 Min. |
| 4. | „ | „ | 1 Std. |
| 5. | „ | „ | 20 Std. |

Außerdem werden Kontrollversuche mit unbehandeltem Samenfleck A und reiner Leinwand vorgenommen. Tabelle 3.

Ergebnis:

Auch warmes Wasser hat bei einer Einwirkung bis zu 20 Stunden den A-Receptor im Samenfleck nicht zerstört.

Versuch 4.

Samenflecke der Gruppe A werden der Einwirkung von heißem Wasser zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Heißes Wasser 10 Min.
2. „ „ 15 Min.
3. „ „ 30 Min.
4. „ „ 1 Std.

Außerdem wieder Kontrollversuche mit unbehandeltem Samenfleck A und reiner Leinwand. Tabelle 4.

Ergebnis:

Heißes Wasser hat nach 1 stündiger Einwirkung keine Abschwächung der A-Substanz bedingt.

Versuch 5.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von 30 %iger Essigsäure zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Essigsäure 30 % 10 Min.
2. „ 15 Min.
3. „ 30 Min.
4. „ 1 Std.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 5.

Ergebnis:

Auch Essigsäure hat keine Veränderung des A-Receptors im Samenfleck bedingt.

Versuch 6.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von 10 %iger Kalilauge zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Kalilauge 10 % 10 Min.
2. „ 15 Min.
3. „ 30 Min.
4. „ 1 Std.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 6.

Ergebnis:

Keine Veränderung des A-Receptors durch den Einfluß der 10 %igen Kalilauge nach 1 stündiger Einwirkung.

### Versuch 7.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von Benzin zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Benzin 15 Min.
2. „ 30 Min.
3. „ 1 Std.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 7.

Ergebnis:

Keine Veränderung des A-Receptors durch den Einfluß von Benzin nach 1 Stunde Einwirkung.

### Versuch 8.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von Wasserstoffsuperoxyd zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Wasserstoffsuperoxyd 3 % 15 Min.
2. „ 30 Min.
3. „ 1 Std.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 8.

Ergebnis:

Keine Veränderung des A-Receptors durch den Einfluß von Wasserstoffsuperoxyd nach einer Stunde.

### Versuch 9.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von 96 %igem Spiritus zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Spiritus 96 % 15 Min.
2. „ 30 Min.
3. „ 1 Std.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 9.

Ergebnis:

Keine Veränderung des A-Receptors durch Spiritus bei 1 stündiger Einwirkung.

### Versuch 10.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von 25 %igem und 50 %igem Alkohol zu folgenden Zeiten unterworfen:

1. Alkohol 25 % 15 Min.
2. „ „ 30 Min.
3. „ 50 % 15 Min.
4. „ „ 30 Min.

Kontrollversuch mit reiner Leinwand. Tabelle 10.

Ergebnis:

Keine Veränderung des A-Receptors durch Alkohol bei 30 minutenlanger Einwirkung.

Versuch 11.

Samenflecke der Gruppe A werden dem Einfluß von Hitze (Gasflamme) bezw. der Verbrennung unterworfen. Zeit der Einwirkung bis zu 10 Minuten. Tabelle 11.

Ergebnis:

Bei diesem Versuch zeigt sich nach 2 Minuten die beginnende Abschwächung des Receptors A durch starke Erhitzung, sie schreitet bei weiterer Erhitzung ($3^1/_2$ Minuten( fort, sodaß nach vollständiger Verbrennung des Fleckes (10 Minuten) der A-Receptor zerstört ist. Die Verbrennungsprodukte der Leinwand üben keine Wirkung auf die Serumeigenschaft aus.

Versuch 12.

Zur Prüfung der Bindungsgeschwindigkeit des Serumagglutinins werden Samenflecke A und B mit dem entsprechenden Serum B bezw. A versetzt; man läßt hierbei folgende Zeiten einwirken:

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Samenfleck A auf Serum B | 60 Min. |
| 2. | „ „ „ | 10 Min. |
| 3. | „ „ „ | $^1/_2$ Min. |
| 4. | Samenfleck B auf Serum A | 20 Std. |
| 5. | „ „ „ | 2 Std. |
| 6. | „ „ „ | 1 Std. |
| 7. | „ „ „ | 10 Min. |

Dann wird die Agglutinationsstärke geprüft gegen Blutkörperchen A bezw. B. Tabelle 12.

Ergebnis:

Es wurden 7 verschiedene Versuche hierüber angestellt Thomsen und Putkonen stellten die schwächere Wirkung der B-Eigenschaft gegenüber der A-Eigenschaft fest. Auch in Bezug auf die Bindungsgeschwindigkeit ist dieser Unterschied deutlich. Die Tabelle 12 (Durchschnittswerte von 7 Versuchen) zeigt, daß beim Samenfleck A schon $^1/_2$ Minute genügt, um das Anti-A des Serums B zu absorbieren, wohingegen beim Samenfleck B noch nach 20 Stunden keine vollständige Bindung eingetreten ist.

### Versuch 13.

Außer an Samenflüssigkeit wurde auch die Wirkung der Receptoren im Samenblaseninhalt von Leichen geprüft. Es wurde hierzu Samenblaseninhalt der Gruppen A und B benutzt.

Ergebnis:

Der Samenblaseninhalt von Leichen enthält ebenfalls die Receptoren; sie wirkten auch bei stärkerer Verdünnung hemmend auf die Agglutination. Dabei stellte sich in mehrmals wiederholten Versuchen heraus, daß Samenblaseninhalt der Blutgruppe B eine weit schwächer hemmende Wirkung als Samenblaseninhalt A entfaltete.

### Versuch 14.

Zur Feststellung, ob außer den im Samen und in der Samenblasenflüssigkeit gefundenen Receptoren auch Agglutinine enthalten sind ,wie es beim Blut der Fall ist, wurden rote Blutkörperchen mit Samen und Samenblaseninhalt in verschiedenen Verdünnungen zusammengebracht. Die Prüfung erstreckte sich auf die Gruppen 0, A und B.

Ergebnis:

Trotz mehrmaliger Wiederholung der Versuche und Wechsel der roten Blutkörperchen konnten keine Agglutinine gefunden werden. Auch nach mehr als $^1/_2$ stündiger Einwirkung war keine Agglutination der zugesetzten Blutkörperchen zu beobachten.

### Vorbemerkungen zu den Tabellen.

Spalte 1 enthält die zu untersuchenden Proben.
In Spalte 2 ist der Zusatz der einzelnen Reagentien und deren Einwirkung zu den dabei angegebenen Zeiten notiert.
In Spalte 3 ist nach Ablauf der Einwirkungszeit der Reagentien und völliger Trocknung der Flecke Zusatz des Serums erfolgt.
In Spalte 4 bedeutet: „rote A" = Zusatz der roten Blutkörperchenaufschwemmung der Gruppe A.
Spalte 5—8 enthalten die einzelnen Verdünnungen des Serums.
Es bedeutet:
\+ = Agglutination.
— = keine Agglutination.

## Beurteilung der Versuche.

Bei der Bewertung der in den Tabellen registrierten Versuche zur Beantwortung der eingangs gestellten Fragen, nämlich:

1. Wird die Gruppensubstanz im Samenfleck durch physikalische und chemische Einwirkungen im allgemeinen zerstört oder nicht?
2. Wie rasch ist die Zerstörung durch die einzelnen Reagentien?
3. Besteht ein Unterschied zwischen den Agglutinogenen der verschiedenen Gruppen?

bin ich zu folgenden Ergebnissen gelangt:

1. Fast allgemein konnte ich keine Zerstörung der Substanz durch die von mir benutzten Reagentien (Laugen, Säuren ,Wasser, Spiritus usw.) feststellen; nur Maßnahmen, wie vollständiges Verbrennen oder sehr starkes Erhitzen konnten eine Vernichtung bezw. Schwächung der Gruppensubstanz herbeiführen.
2. Eine verschiedene Wirksamkeit der benutzten Reagentien konnte nicht erwiesen werden; nur dort, wo die Substanz tatsächlich angegriffen wurde (starkes Erhitzen), konnte ein zeitlicher Unterschied festgestellt werden.
3. Ein Unterschied in der Wirksamkeit der Agglutinogene A und B in Samenflecken in Bezug auf das Bindungsvermögen der entsprechenden Agglutinine konnte einwandfrei beobachtet werden; und zwar führte Agglutinogen A rascher zur Absorption und Hemmung.

Es ergibt sich also hieraus, daß eine Einwirkung der verschiedenen Reagentien mit Ausnahme der starken Erhitzung und vollständigen Verbrennung nicht festgestellt werden konnte, da sie alle die Substanz unversehrt ließen. Doch gelang mir noch eine andere Beobachtung bei meinen Versuchen. Bezüglich der Zeitdauer nämlich, welche nötig ist, um eine Bindung des Agglutinins durch das Agglutinogen zu ermöglichen, konnte ich bei der Sameneigenschaft A feststellen und durch Kontrollversuche immer wieder nachprüfen, daß sogar meist die Einwirkung des Serums von nur $^1/_2$ Minute ausreicht, um das Agglutinogen zu absorbieren.

Zum Schluß wäre noch einiges über das von mir benutzte Serum und über die Wirkung zufällig bei einzelnen Versuchen vorhandener Fremdkörper zu erwähnen.

Das von mir benutzte Serum erwies sich in seiner Wirksamkeit wechselnd. Auch Aufbewahrung im Eisschrank konnte der allmählich eintretenden Zersetzung und der dabei auftretenden Abschwächung keinen Einhalt gebieten. Eine besondere Wirkung bezw. unspezifische Abschwächung durch Fasern und andere bei einzelnen Versuchen vorhandene Fremdkörper konnte in keinem Falle beobachtet werden.

## Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Man ersieht also aus diesen Versuchen an Samenflecken, daß im Gegensatz zum Blute die agglutinable Substanz des Samens durch die Einwirkung einer Anzahl von chemischen und physikalischen Mitteln (abgesehen von starker Hitze) weder geschwächt noch gar zerstört werden konnte, also die Receptoren sehr widerstandsfähig sind.

Wie wichtig diese Feststellung für die praktische Verwertung in der gerichtlichen Medizin ist, mag daraus ersehen werden, daß es in Fällen von Notzuchtverbrechen dem Täter wohl sehr schwer gelingen wird, die spezifische Gruppensubstanz in den Samenflecken zu vernichten und dadurch dem Nachweis zu entziehen, auch wenn er durch ein als gut reinigend bekanntes Mittel den Fleck und damit auch die Spuren seiner Tat beseitigt zu haben glaubt.

Hier wird also trotz dieser reinigenden Prozeduren eine Untersuchung des Fleckes auf die Gruppenzugehörigkeit nicht versagen, und es wird möglich sein, in unklaren Fällen den eventuellen Täter zu überführen oder einen unschuldig Verdächtigten auszuschließen.

Als Methode wird sich immer die Absorption mit einem Serum 0, das geprüft ist, empfehlen. Die Absorption wird über 24 Stunden evtl. 48 Stunden ausgedehnt, wobei die quantitative Abschwächung der Agglutinine geprüft wird und außerdem Kontrollversuche mit unbeflecktem, gleichartigem Stoff anzustellen sind.

Nach Abschluß meiner Versuche erschien eine Arbeit von Christensen, der an Spermaflecken in mehreren forensischen Fällen die Gruppenbestimmung mit Erfolg durchgeführt hat.

Zum Schluß möchte ich mir gestatten, Herrn Professor Straßmann für die freundliche Anregung zum Thema sowie Herrn Professor Henke und Herrn Professor Mathias für das bereitwilligste Entgegenkommen bei Erlangung des Materials meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

## Literaturverzeichnis.


1. Christensen, Dtsch. Z. gerichtl. Med. 20.
2. v. Dungern und Hirszfeld, Z. Immun. forschg. 8 (1910).
3. Halpern, Z. Immun. forschg. 11 (1911).
4. Holzer, F. J., Dtsch. Z. gerichtl. Med. 16 (1931). Klin. Wschr. 813 (1930).
5. Krainskaja - Jgnatowa, V. N., Dtsch. Z. gerichtl. Med. 13 (1929).
6. Kritschewsky, J. L. und L. A. Schwarzmann, Klin. Wschr. 44 (1927), 19 (1928).
7. Landsteiner, K. und Ph. Levine, J. of Immun. 12 Nr. 5 (1926).
8. Lattes, L., Dtsch. Z. gerichtl. Med. 13 (1929), 9 (1927) Wien. Klin. Wschr. Nr. 29 (1928).
9. Müller, A., Dtsch. Z. gerichtl. Med. 11 (1918).
10. Putkonen, T., Akad. Abh. 1930, Helsingfors, Ref. i. Z. f. gerichtl. Med., Band 20.
11. Schiff, Ueber gruppenspezifische Substanzen des menschlichen Körpers, Jena 1931.
    Die Technik d. Blutgruppenuntersuchung für Kliniken und Gerichtsärzte, Berlin 1929 — Klin Wschr. 1924 Nr. 16 — Arch. Kriminol. 89, H. 1 und 2 (1931).
12. Steffan, Paul, Handbuch der Blutgruppenkunde, München 1932, (Abschnitt-Thomsen).
13. Straßmann, F., Lehrbuch d. gerichtl. Med., Enke 1931.
14. Straßmann, G., D. Z. ges. ger. Med., Bd. 19 u. Bd. 21,
15. Witebsky, E., Klin. Wschr. 1927 Nr. 37, 1928 Nr. 3.
16. Witebsky, E. u. K. Okabe, Z. Immun. forschg. 52 (1927).
17. Yamakami, K., J. of. Immun. 12 Nr. 3 (1926).

## Lebenslauf.

Ich, Hans Jacob, wurde am 16. Mai 1897 zu Posen geboren.

In Bromberg besuchte ich zunächst 3 Jahre die Städt. Bürgerschule sodann das Königl. Realgymnasium.

Am 3. August 1914 trat ich als Oberprimaner kriegsfreiwillig in das Feldart. Regt. 53 in Bromberg ein. Ich war 3 Jahre 4 Monate an der Front. Nach meiner Beförderung zum Leutnant wurde ich zum Res. Feldart. Regt. 3 versetzt und war bei diesem Truppenteil bis zum Schluß des Krieges. Sodann war ich im Grenzschutzdienst Bromberg-Schneidemühl tätig. Am 30. Juni 1920 wurde ich verabschiedet.

Durch den Polenaufstand verloren meine Eltern ihr Vermögen und mußten aus Bromberg flüchten. Ich hatte daher keine Mittel zum Studium und sparte mir durch kaufmännische Tätigkeit einen Teil der Studiengelder. So begann ich erst im Sommer 1927 mit meinem Studium; und zwar studierte ich 11 Semester Medizin in Breslau. Am 22. Februar 1933 bestand ich dortselbst die ärztliche Staatsprüfung.

## Tabelle 1

| | | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 | 1/64 | 1/128 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Samenfleck A | | „ | „ | | | | | | | |
| Leinwand rein | | „ | „ | | | | | | | |

## Tabelle 2

| Samenfleck A | kaltes Wasser | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | 10 Min. | „ | „ | | | | |
| „ | „ 15 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | | | | |
| „ | „ 20 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 48 „ | „ | „ | | | | |
| „ | unbehandelt | „ | „ | | | | |
| Leinwand rein | „ | „ | „ | | | | |

## Tabelle 3

| Samenfleck A | warm. Wasser | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | 10 Min. | „ | „ | | | | |
| „ | „ 15 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | | | | |
| „ | „ 24 „ | „ | „ | | | | |
| „ | unbehandelt | „ | „ | | | | |
| Leinwand rein | „ 1 Std. | „ | „ | | | | |

## Tabelle 4

| Samenfleck A | heißes Wasser | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | 10 Min. | „ | „ | | | | |
| „ | „ 15 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | | | | |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | | | | |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | | | | |
| „ | unbehandelt | „ | „ | | | | |

## Tabelle 5

| Samenfleck A | 30% Essigsäure 10 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 15 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 6

| Samenfleck A | 10% Kalilauge 10 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 15 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 7

| Samenfleck A | Benzin 15 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 8

| Samenfleck A | 3% Wasserstoffsuperoxyd 15 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 9

| Samenfleck A | 96% Spiritus 15 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 1 Std. | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 1 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 10

| Samenfleck A | 25 % Alkohol „ 15 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 30 „ | „ | „ | + | + | + | + |
| Samenfleck A | 50 % Alkohol „ 15 Min. | „ | „ | — | — | — | — |
| „ | „ 30 „ | „ | „ | — | — | — | — |
| Leinwand rein | „ 30 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 11

| Samenfleck A | erhitzt bis zur Gelbfärbung 2 Min. | Serum B | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | schwach + | ? | — | — |
| „ | erhitzt bis zur Braunfärbung 3 1/2 Min. | „ | „ | + | schwach + | — | — |
| „ | verbrannt 10 Min. | „ | „ | + | + | + | + |
| Leinwand rein | „ 10 „ | „ | „ | + | + | + | + |

## Tabelle 12

| Samenfleck A | | Serum B 60 Min. | rote A | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| „ | | „ 10 „ | „ | — | — | — | — |
| „ | | „ 1/2 „ | „ | — | — | — | — |
| „ B | | „ A 20 Std | „ B | + | schwach + | — | — |
| „ | | „ 2 „ | „ | + | + | schwach + | — |
| „ | | „ 1 „ | „ | + | + | + | schwach + |
| „ | | „ 10 Min. | „ | + | + | + | + |